

República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0805156-9 A2**



\* B R P I O 8 0 5 1 5 6 A 2 \*

(22) Data de Depósito: 20/11/2008  
(43) Data da Publicação: 17/08/2010  
(RPI 2067)

**(51) Int.Cl.:**  
A61K 9/51  
A61K 31/353  
A61K 36/28  
A61P 1/06  
A61P 29/00

**(54) Título: NANOESTRUTURA COMPREENDENDO EXTRATOS VEGETAIS, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE NANOESTRUTURA COMPREENDENDO EXTRATOS VEGETAIS E COMPOSIÇÕES COMPREENDENDO AS MESMAS**

**(57) Resumo:** NANOESTRUTURA COMPREENDENDO EXTRATOS VEGETAIS, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE NANOESTRUTURA COMPREENDENDO EXTRATOS VEGETAIS E COMPOSIÇÕES COMPREENDENDO AS MESMAS. A presente invenção consiste em um processo de obtenção de nanoestruturas e composições farmacêuticas, cosméticas e/ou alimentícias compreendendo tais nanoestruturas contendo extratos vegetais, sendo que a formação das nanoestruturas ocorre em uma única etapa.

(73) Titular(es): Universidade Federal do Rio Grande do Sul

(72) Inventor(es): Edison Luis Santana Carvalho, Gilsane Lino Von Poser, Giovani Konat Zorzi, Helder Ferreira Teixeira, José Cláudio Fonseca Moreira, Valquíria Linck Bassani



### Relatório Descritivo de Patente de Invenção

NANOESTRUTURA COMPREENDENDO EXTRATOS VEGETAIS, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE NANOESTRUTURA COMPREENDENDO EXTRATOS VEGETAIS E COMPOSIÇÕES COMPREENDENDO AS MESMAS.

5

#### Campo da Invenção

A presente invenção consiste num processo de obtenção de nanoestruturas e de composições farmacêuticas, cosméticas e/ou alimentícias compreendendo essas nanoestruturas extratos vegetais, sendo que a formação das nanoestruturas ocorre espontaneamente em uma única etapa.

10

#### Antecedentes da Invenção

A indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia tem demonstrado interesse crescente pelo desenvolvimento de produtos obtidos a partir de extratos vegetais e de moléculas bioativas obtidas a partir desses extratos.

15

No desenvolvimento desses produtos, o(s) composto(s) de interesse é extraído(s) das plantas através do uso de um sistema solvente adequado. Quando os compostos de interesse são insolúveis em água, como por exemplo, das agliconas, esses são extraídos através do uso de solventes orgânicos.

20

Geralmente, é necessária a retirada do solvente orgânico para o uso desses produtos em humanos, por diversas razões relacionadas a potencial toxicidade desses solventes aos sistemas biológicos. Diversos processos farmacêuticos são utilizados com esse objetivo originando extratos moles ou secos.

25

Um exemplo de planta rica em compostos ativos na forma de agliconas é *Achyrocline satureioides* Lam- DC (Asteraceae) – marcela. A marcela é uma espécie vegetal cultivada cujas inflorescências são amplamente utilizadas popularmente no Brasil e em outros países da América do Sul, devido às suas diferentes atividades biológicas, incluindo, a atividade antiinflamatória, a

30

antiespasmódica, a analgésica, a digestiva, a antidiarréica, a carminativa, a hipocolesterolêmica, a antiviral, entre outras, as quais já foram comprovadas cientificamente por diversos pesquisadores. Tais atividades biológicas têm sido relacionadas com diversos compostos químicos presentes no vegetal, no qual encontram-se os ácidos orgânicos, óleos voláteis e flavonóides, sendo que estes últimos têm sido descritos como sendo os constituintes majoritários da planta e, dentre os quais, podem-se destacar a quercetina, a luteolina e a 3-O-metilquercetina.

A incorporação de moléculas bioativas com essa característica (de reduzida solubilidade) em nanoestruturas, obtidas em preparações aquosas é bastante complexa. Nanoestruturas (i.e. nanoemulsões, nanopartículas e lipossomas) são sistemas nanométricos constituídos de matérias primas lipídicas e/ou poliméricas, dispersos em uma fase aquosa. Apresentam-se como líquidos, sendo que as moléculas de reduzida hidrossolubilidade encontram-se preferencialmente dispersas e/ou adsorvidas na interface do núcleo lipídico e/ou polimérico da nanoestrutura. O interesse pelo uso destes sistemas reside, além da possibilidade de incorporação de moléculas de reduzida hidrossolubilidade em água, na estabilização de moléculas instáveis, na modulação das características biofarmacêuticas das substâncias veiculadas, ou ainda, no direcionamento a um sítio específico.

Assim, a presente invenção descreve o processo de obtenção, em uma única etapa, de diferentes composições nanoestruturadas lipídicas e/ou poliméricas contendo extrato vegetal, sendo o de *Achyrocline satureioides* utilizado aqui, como um exemplo.

Na literatura patentária foram encontrados alguns documentos que circunscrevem o tema.

O documento US 2003/055103 descreve composições compreendendo extratos de *Achyrocline satureioides* para tratamento e/ou prevenção de danos cerebrais degenerativos e/ou isquêmicos-vasculares através de lipossomas contendo extratos de *Achyrocline satureioides*. A presente invenção difere deste documento por utilizar nanosistemas ao invés de lipossomas.

O documento WO 2006/068759 descreve lipossomas compreendendo agentes fitoquímicos que podem ser obtidos de diversas plantas, como por exemplo *Achyrocline satureioides*. A presente invenção difere deste documento por utilizar nanossistema ao invés de lipossomas, como também técnica de  
5       preparo diferente.

Os documentos US 2007/160651, US 2007/085058 tratam de nanoemulsões compreendendo lecitinas e fosfolipídios, e agentes bioativos, onde o método de preparo inclui a mistura e agitação de todos os componentes, preferencialmente sob aquecimento. A presente invenção difere  
10       destes documentos por compreender uma etapa de solubilização dos componentes em etanol seguida de emulsificação em água. Além disso, nada é falado sobre a presença de extratos vegetais.

O documento WO 99/03450 descreve o modo de preparo de micropartículas ou nanopartículas compreendendo proteínas de plantas e  
15       composições cosméticas, farmacêuticas e/ou alimentícias compreendendo o mesmo. Em especial, o método de preparo necessita de um agente polifuncional acilante. A presente invenção difere desse documento por não necessitar de um agente acilante para a formação das nanoestruturas.

O documento WO 05/095031 descreve um processo de síntese de  
20       nanopartículas utilizando extratos de plantas. Em especial, esse processo reage uma solução aquosa de íons metálicos a fim de originar nanopartículas mono e bimetálicas. A presente invenção difere desse documento por não utilizar um meio aquoso contendo íons metálicos mas, sim, uma fase aquosa e uma fase orgânica.

O documento US 2003/155668 descreve um processo de produção de  
25       uma suspensão de uma substância com até 500 nm de diâmetro médio que possa ser fundida sem que ocorra sua decomposição. O processo compreende uma etapa de expansão da emulsão em uma zona de pressão reduzida. A presente invenção difere desse documento pelo fato de não compreender uma  
30       etapa de expansão da emulsão.

O documento US 6537579 descreve um processo de produção de nanopartículas através do uso de pressões elevadas. A presente invenção difere desse documento por formar nanosistemas compreendendo um extrato vegetal como composto bioativo e não utilizar pressões elevadas em sua  
5 preparação.

Portanto, pode-se ver que o estado da técnica não descreve nem sugere nanoestruturas compreendendo extratos vegetais com atividade biológica, de interesse farmacêutico, cosmético ou alimentar.

## 10 **Objetivos da Invenção**

É um objeto da presente invenção nanoestruturas compreendendo um extrato vegetal bioativo onde tais nanoestruturas possuem diâmetro de partícula médio inferior a 1 micrômetro. É um objeto adicional da presente invenção um processo de preparo de nanoestruturas compreendendo as  
15 etapas de:

a) Dissolver em um solvente orgânico:

i) de 0,01% p/p a 10% p/p de pelo menos um extrato vegetal bioativo;  
20 ii) até 15% de pelo menos um composto selecionado do grupo que compreende:

- tensoativos;
- substância oleosa;
- polímeros; e
- 25 - mistura dos mesmos.

b) adicionar a solução (a) em água, sob agitação; e

c) evaporar os solventes.

É um objeto adicional da presente invenção proporcionar composições farmacêuticas, cosméticas e/ou alimentícias compreendendo as nanoestruturas descritas na presente invenção.

5 Em uma realização preferencial, o extrato bioativo é obtido de *Achyrocline satureioides*.

Em uma realização preferencial, a água da etapa b) possui até 5% de pelo menos um tensoativo.

### **Breve Descrição das Figuras**

10 A Figura 1 mostra eletromicrografias (MET) de nanoemulsões isentas de extrato de *Achyrocline satureioides* (A e B); contendo o flavonoide quercetina isolado (C e D) e nanoemulsões contendo o extrato de *Achyrocline satureioides* (E e F).

### **15 Descrição Detalhada da Invenção**

A presente invenção será exposta a seguir em detalhes. Os exemplos descritos a seguir são meras concretizações preferenciais da invenção, não devendo ser compreendidos como limitantes de invenção. Variações ou concretizações similares devem ser consideradas como dentro do escopo da  
20 invenção.

#### **Extrato Vegetal**

O extrato vegetal adequado para uso na presente invenção pode ser qualquer extrato vegetal bioativo. Em uma realização preferencial, o extrato  
25 utilizado é qualquer extrato hidromiscível obtido a partir de **qualquer planta**. Em especial, a presente invenção utiliza plantas pertencentes ao gênero *Achyrocline*, em especial a espécie *Achyrocline satureioides*. No entanto, a presente invenção não se limita a essa espécie vegetal, sendo, portanto adequado para uso na presente invenção extratos vegetal com qualquer  
30 atividade biológica. O extrato vegetal pode ainda ser uma fração de um extrato, desde que essa fração possua atividade biológica, de interesse farmacêutico,

cosmético ou alimentar. O extrato pode ser obtido por qualquer método tradicional de extração, como maceração, extração com sohxlet, ou ainda, ressuspensão de pó seco.

Em especial o extrato vegetal está presente na nanoestrutura numa  
5 concentração de 0,01% p/p a 10 % p/p.

#### Substância Oleosa

Substâncias oleosas adequadas para uso na presente invenção incluem, mas não se limitam a oleato de decila, isohexadecano, ésteres do ácido  
10 esteárico e/ou oleico, etanolamida de ácido graxo de côco, óleos, como óleo de milho, amendoim, sésamo, oliva, jojoba, soja, álcool graxo, parafina, triglicerídeos de cadeia média, palmitatos, miristatos e octildodecanol. Em especial a substância oleosa preferida é o octildodecanol. Em especial a substância oleosa está presente numa concentração de até 5% p/p.

15

#### Tensoativos/Surfactantes

Os surfactantes úteis na presente incluem os surfactantes aniônicos, não-  
iônicos, catiônicos e anfotéricos conhecidos do estado da técnica.

Preferencialmente, os surfactantes da presente invenção podem ser  
20 escolhidos do grupo que compreende, sem contudo limitar, surfactantes não-iônicos como Tween 20, Tween 40, Tween 80, Span 20, Span 40, Span 60, Span 80, emulsificantes, colato de sódio, deoxicolato de sódio, glicolato de sódio, taurocolato de sódio, taurodeoxicolato de sódio.

Em especial, o surfactante pode estar presente na nanoestrutura numa  
25 concentração de até 5% p/p.

Surfactantes também úteis na presente invenção compreendem especialmente lecitinas e fosfolipídeos. Lecitinas são conhecidas como glicerofosfolipídeos os quais são formados a partir de ácidos graxos, glicerol, ácido fosfórico e colina por esterificação. As lecitinas são frequentemente  
30 referenciadas como fosfatidil colinas. Fosfolipídeos adequados para uso na presente invenção incluem, mas não se limitam a, fosfolipídeos encontrados na

gema de ovo e soja. Além dos fosfolipídeos e lecitinas, para efeito desta invenção, os esfingolipídeos também se enquadram nessa definição.

Em uma realização preferencial, a presente invenção usa uma mistura compreendendo fosfatidilcolina 84 %; fosfatidiletanolamina 8 %; Liso-  
5 fosfatidilcolina 2,2 %; Liso-fosfatidiletanolamina 0,4 %; Esfingomielina 2,2 % p/p.

#### Componentes adicionais

A nanoestrutura da presente invenção pode ainda conter,  
10 opcionalmente, componentes adicionais, como polímeros, em especial os hidrofóbicos.

Em uma realização preferencial, o polímero hidrofóbico é poli-epsilon-caprolactona, e está presente em uma concentração de 0% p/p a 1% p/p, bem como os polímeros hidrofílicos doadores de viscosidade.

15

#### Obtenção dos Produtos

O processo de preparo das nanoestruturas útil na presente invenção compreende as etapas de:

a) dissolver em um solvente orgânico:

20

- i) de 0,01% p/p a 10% p/p de pelo menos um extrato vegetal bioativo;
- ii) até 15% de pelo menos um composto selecionado do grupo que compreende:

- tensoativos;
- substância oleosa ;
- 25 - polímeros; e
- mistura dos mesmos.

b) adicionar a solução (a) em água, sob agitação; e

c) evaporar os solventes.



Os solventes orgânicos adequados para uso na presente invenção incluem, mas não se limitam a, acetona, etanol, metanol, e mistura dos mesmos. Preferencialmente são utilizados acetona ou etanol.

5 Em especial, a solução do item a) é vertida em água sob agitação magnética moderada, havendo formação espontânea da nanoemulsão. Após aproximadamente 10 minutos de agitação ocorre a etapa de eliminação dos solventes e o volume reduzido em evaporador rotatório, até o volume desejado, em especial de 8 mL. A proporção de solventes utilizadas foi de 30/60 com fase interna final de 10%.

10 Em uma realização preferencial a água utilizada em b) pode conter até 5% p/p de um tensoativo.

Em uma realização preferencial a evaporação dos solventes é realizada até que o volume final seja em torno de 10% à 15% do volume inicial.

15 O extrato vegetal é preferencialmente obtido por uma etapa preliminar de maceração e extração com solução alcoólica ou hidroalcoólica.

As composições da presente invenção compreendem:

- 20 a) de 0,1% a 99% de nanoestrutura compreendendo pelo menos um extrato vegetal;
- b) um veículo adequado.

Em especial, a composição pode ser uma composição farmacêutica, uma composição alimentícia e/ou uma composição cosmética. As nanoestruturas da presente invenção podem apresentar-se na forma de uma nanoemulsão, uma nanopartícula ou um nanoagregado.

25

Para caracterização, foram determinados os seguintes parâmetros:

- 30 a) Diâmetro médio de partícula: As formulações de nanoemulsões foram caracterizadas através de espalhamento de luz dinâmico pela difusão de raio laser monocromático que atravessa a dispersão coloidal. Essa determinação foi

realizada observando-se o espalhamento a 173° após diluição das amostras em água purificada, previamente filtrada em membrana de 0,22 µm (Millipore®). Os resultados foram expressos como média de três determinações de três lotes.

5

b) Determinação do Potencial Zeta: O Potencial Zeta das nanoemulsões foi determinado através da mobilidade eletroforética das gotículas. As medidas foram realizadas após calibração com uma solução padrão a - 55 mV (látex poliestireno carboxilato). Todas as análises foram realizadas após diluição das amostras em água purificada, previamente filtrada em membrana de 0,22 µm (Millipore). Os resultados foram expressos como média de três determinações dos três lotes preparados de cada formulação.

10

c) Teor e taxa de associação: O teor dos flavonóides (expresso em quercetina) aos sistemas foi realizada através da dissolução das nanoestruturas em metanol com posterior filtração. O teor foi determinado através da equação obtida na curva padrão por cromatografia líquida de alta eficiência. A taxa de associação foi avaliada através da ultrafiltração/centrifugação das formulações. Para tanto, uma amostra foi submetida ao processo de filtração em membranas de ultrafiltração (Amicon Ultra® de 10 kDa) em uma centrífuga Sigma 6-15, durante 30 minutos a uma força de 5000 g.

15

20

### **Exemplo 1 – Obtenção da nanoestrutura 1 em presença de lecitina**

#### Composição

##### ➤ Fase Orgânica

25

2 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

160 mg de lecitina

24 g de solvente orgânico (etanol)

##### ➤ Fase Aquosa

48 g de água MiliQ

30

#### Procedimento

As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo a fosfatidilcolina de gema de ovo (Lipoid E-80).

5 É elaborada uma fase orgânica composta de fosfatidilcolina e extrato vegetal, dissolvidos em etanol. A fase orgânica é vertida sobre a água, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea das nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 8 mL.

10 Produtos obtidos: Lipossomas/micelas/nanoemulsões

Resultados:

Potencial Zeta = - 30,55 mV

Diâmetro = 141,7 nm

Taxa de associação 100 %

15

**Exemplo 2 – Obtenção da nanoestrutura 2 em presença de lecitina**

Composição

➤ Fase Orgânica

2 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

20 160 mg de tensoativo (lecitina)

640 mg de óleo (ODD)

24 g de solvente orgânico (etanol)

➤ Fase Aquosa

48 g de água MiliQ

25

Procedimento

As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo a fosfatidilcolina de gema de ovo (Lipoid E-80).

30 É elaborada uma fase orgânica composta de fosfatidilcolina, ODD e extrato vegetal dissolvidos em etanol. A fase orgânica é vertida sobre a água, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de

nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 8 mL.

Produtos obtidos: Lipossoma/Nanoemulsão/nanocápsulas

5 Resultados:

Potencial Zeta = - 43,55 mV

Diâmetro = 295,58 nm

Taxa de associação 100 %

10 **Exemplo 3** – Obtenção da nanoestrutura 3 em presença de lecitina

Composição

➤ Fase Orgânica

2 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

160 mg de tensoativo (lecitina)

15 100 mg de polímero hidrofóbico (poli-epsilon-caprolactona/PECL)

24 g de solvente orgânico (acetona)

➤ Fase Aquosa

48 g de água MiliQ

Procedimento

20 As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo a fosfatidilcolina de gema de ovo (Lipoid E-80).

25 É elaborada uma fase orgânica composta de fosfatidilcolina, PECL e extrato vegetal dissolvidos em acetona. A fase orgânica é vertida sobre a água, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 10 mL.

Produto obtido: nanopartículas

30 Resultados:

Potencial Zeta – 33,08 mV

Diâmetro 142,3 nm

Taxa de associação 100 %

**Exemplo 4** – Obtenção da nanoestrutura 4 em presença de lecitina

5 Composição

➤ Fase Orgânica

1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

160 mg de tensoativo (lecitina)

100 mg e polímero hidrofóbico (PECL)

10 50 mg de óleo (ODD)

24 g de solvente orgânico (acetona)

➤ Fase Aquosa

48 g de água MiliQ

Procedimento

15 As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo a fosfatidilcolina de gema de ovo (Lipoid E-80).

É elaborada uma fase orgânica composta de fosfatidilcolina, ODD, PECL e extrato vegetal dissolvidos em acetona. A fase orgânica é vertida sobre a  
20 água, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 10 mL.

Produtos obtidos: nanocápsulas/lipossomas/nanopartículas

25 Resultados:

Potencial Zeta – 30,78 mV

Diâmetro 142,53 nm

Taxa de associação 100 %

30 Nos exemplos a seguir será testado um outro tipo de tensoativo: monooleato de sorbitano (Span80®).

**Exemplo 5** – Obtenção da nanoestrutura 5 em presença de Span80®Composição➤ Fase Orgânica

- 5            1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado  
              150 mg de Span80®  
              24 g de solvente orgânico (etanol)

➤ Fase Aquosa

              48 g de água MiliQ

10           Procedimento

As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo o monooleato de sorbitano (Span80®).

- 15           É elaborada uma fase orgânica composta de monooleato de sorbitano e extrato vegetal, dissolvidos em etanol. A fase orgânica é vertida sobre a água, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea das nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 8 mL.

20           Produtos obtidos: nanodispersos/micelas/nanopartículasResultados:

              Potencial Zeta – 50,25 mV

              Diâmetro 152,6 nm

              Taxa de associação 100 %

- 25           Esta formulação não utiliza nenhum material polimérico e/ou lipídico para sua formação, somente o tensoativo e a solução extrativa, como descrita anteriormente.

**Exemplo 6** – Obtenção da nanoestrutura 6 em presença de Span80®30           Composição➤ Fase Orgânica

1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado  
 150 mg de tensoativo (Span80®)  
 50 mg de óleo (ODD)  
 24 g de solvente orgânico (etanol)

5

➤ Fase Aquosa

48 g de água MiliQ

As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo o monooleato de sorbitano (Span80®).

10

É elaborada uma fase orgânica composta de monooleato de sorbitano, ODD e extrato vegetal dissolvidos em etanol. A fase orgânica é vertida sobre a água, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 8 mL.

15

Produto obtido: nanodispersos

Resultados:

Potencial Zeta – 48,71 mV

Diâmetro 345 nm

20

Taxa de associação 100 %

**Exemplo 7 – Obtenção da nanoestrutura 7 em presença de Span80®**

Composição

➤ Fase Orgânica

25

1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado  
 150 mg de tensoativo (Span80®)  
 100 mg de polímero hidrofóbico (PECL)  
 24 g de solvente orgânico (acetona)

➤ Fase Aquosa

30

48 g de água MiliQ

Procedimento

As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo o monooleato de sorbitano (Span80®).

5 É elaborada uma fase orgânica composta de monooleato de sorbitano, PECL e extrato vegetal dissolvidos em acetona. A fase orgânica é vertida sobre a água, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 10 mL.

10 Produto obtido: nanopartícula

Resultados:

Potencial Zeta -49,26 mV

Diâmetro 178,3 nm

Taxa de associação 100 %

15

**Exemplo 8 – Obtenção da nanoestrutura 8 em presença de Span80®**

Composição

➤ Fase Orgânica

1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

20 150 mg de tensoativo (Span80®)

100 mg de polímero hidrofóbico (PECL)

50 mg de óleo (ODD)

24 g de solvente orgânico (acetona)

➤ Fase Aquosa

25 48 g de água MiliQ

Procedimento

As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo o monooleato de sorbitano (Span80®).

30 É elaborada uma fase orgânica composta de monooleato de sorbitano, ODD, PECL e extrato vegetal dissolvidos em acetona. A fase orgânica é vertida



sobre a água, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 10 mL.

5 Produtos obtidos: nanocápsulas/nanopartículas

Resultados:

Potencial Zeta -48,55 mV

Diâmetro 380,47 nm

Taxa de associação 100 %

10 Nos próximos exemplos será testado outro tipo de tensoativo: polissorbato 80 (Tween 80) e adicionalmente em presença de lecitina.

**Exemplo 9** – Obtenção da nanoestrutura 9 em presença de Tween 80 e lecitina

15 Composição

➤ Fase Orgânica

1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

160 mg de lecitina

24 g de solvente orgânico (etanol)

20 ➤ Fase Aquosa

48 g de água MiliQ

125 mg de Tween 80

Procedimento

25 As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo a fosfatidilcolina de gema de ovo (Lipoid E-80) e o polissorbato 80 (Tween 80).

30 É elaborada uma fase orgânica composta de monooleato de sorbitano e extrato vegetal, dissolvidos em etanol. A fase orgânica é vertida sobre a fase aquosa, composta de água e polissorbato 80, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea das nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do

solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 8 mL.

Produtos obtidos: nanodispersos/micelas/nanopartículas

Resultados:

- 5                   Potencial Zeta -30,21 mV  
                      Diâmetro 235,9 nm  
                      Taxa de associação 100 %

10 **Exemplo 10** – Obtenção da nanoestrutura 10 em presença de Tween 80 e lecitina

Composição

➤ Fase Orgânica

1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

160 mg de lecitina

15                   50 mg de óleo (ODD)

24g de solvente orgânico (etanol)

➤ Fase Aquosa

48 g de água MiliQ

125 mg de Tween80

20 Procedimento

As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo a fosfatidilcolina de gema de ovo (Lipoid E-80) e o polissorbato 80 (Tween 80).

25 É elaborada uma fase orgânica composta de monooleato de sorbitano e extrato vegetal, dissolvidos em etanol. A fase orgânica é vertida sobre a fase aquosa, composta de água e polissorbato 80, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea das nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume  
30 de 8 mL.

Produtos obtidos: Nanodispersões/Nanoemulsão

Resultados:

Potencial Zeta -28,97 mV

Diâmetro 275,6 nm

Taxa de associação 100 %

5

**Exemplo 11** – Obtenção da nanoestrutura 11 em presença de Tween 80 e lecitina

Composição➤ Fase Orgânica

10

1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

160 mg de lecitina

100 mg de polímero hidrofóbico (PECL)

24 g de solvente orgânico (acetona)

➤ Fase Aquosa

15

48 g de água MiliQ

125 mg de Tween80

Procedimento

As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo a fosfatidilcolina de gema de ovo (Lipoid E-80) e o polissorbato 80 (Tween 80).

É elaborada uma fase orgânica composta de fosfatidilcolina, ODD, PECL e extrato vegetal dissolvidos em acetona. A fase orgânica é vertida sobre a fase aquosa, composta de água e polissorbato 80, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 10 mL.

Produtos obtidos: nanopartículas/nanodispersos

Resultados:

30

Potencial Zeta -49,67 mV

Diâmetro 156,6 nm

Taxa de associação 100 %

**Exemplo 12** – Obtenção da nanoestrutura 12 em presença de Tween 80 e lecitina

5        Composição

➤        Fase Orgânica

1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

160 mg de lecitina

100 mg de polímero hidrofóbico (PECL)

10        50 mg de óleo (ODD)

24 g de solvente orgânico (acetona)

➤        Fase Aquosa

48 g de água MiliQ

125 mg de Tween 80

15        Procedimento

As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo a fosfatidilcolina de gema de ovo (Lipoid E-80) e o polissorbato 80 (Tween 80).

20        É elaborada uma fase orgânica composta de fosfatidilcolina, ODD, PECL e extrato vegetal dissolvidos em acetona. A fase orgânica é vertida sobre a fase aquosa, composta de água e polissorbato 80, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume  
25        de 10 mL.

Produtos obtidos: nanocápsulas/nanopartículas/nanodispersos

Resultados:

Potencial Zeta -47,94 mV

Diâmetro 178,3 nm

30        Taxa de associação 100 %

Nos próximos exemplos serão avaliados em conjunto os tensoativos Tween 80 e Span80®.

**Exemplo 13** – Obtenção da nanoestrutura 13 em presença de Tween 80 e Span80®

Composição

➤ Fase Orgânica

1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

150 mg de Span80®

24 g de solvente orgânico (etanol)

➤ Fase Aquosa

48 g de água MiliQ

125 mg de Tween 80

Procedimento

As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo o monooleato de sorbitano (Span80®) e o polissorbato 80 (Tween 80).

É elaborada uma fase orgânica composta de monooleato de sorbitano e extrato vegetal, dissolvidos em etanol. A fase orgânica é vertida sobre a fase aquosa, composta de água e polissorbato 80, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 8 mL.

Produtos obtidos: nanodispersos/micelas

Resultados:

Potencial Zeta -46,93 mV

Diâmetro 176,5 nm

Taxa de associação 100 %

**Exemplo 14** – Obtenção da nanoestrutura 14 em presença de Tween 80 e Span80®

Composição

➤ Fase Orgânica

- 5                    1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado  
                      150 mg de Span80®  
                      50 mg de óleo (ODD)  
                      24 g de solvente orgânico (etanol)

➤ Fase Aquosa

- 10                   48 g de água MiliQ  
                      125 mg de Tween 80

Procedimento

As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo o monooleato de sorbitano (Span80®) e o polissorbato 80 (Tween 80).

É elaborada uma fase orgânica composta de monooleato de sorbitano e extrato vegetal, dissolvidos em etanol. A fase orgânica é vertida sobre a fase aquosa, composta de água e polissorbato 80, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 8 mL.

Produtos obtidos: nanodispersos/nanoemulsão

Resultados:

- 25                    Potencial Zeta -31,98 mV  
                      Diâmetro 344,9 nm  
                      Taxa de associação 100 %

**Exemplo 15** – Obtenção da nanoestrutura 15 em presença de Tween 80 e Span80®

Composição

➤ Fase Orgânica

1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

150 mg de Span80®

100 mg de polímero hidrofóbico (PECL)

5 24 g de solvente orgânico (acetona)

➤ Fase Aquosa

48 g de água MiliQ

125mg de Tween 80

Procedimento

10 As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo o monooleato de sorbitano (Span80®) e o polissorbato 80 (Tween 80).

15 É elaborada uma fase orgânica composta de fosfatidilcolina, ODD, PECL e extrato vegetal dissolvidos em acetona. A fase orgânica é vertida sobre a fase aquosa, composta de água e polissorbato 80, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 10 mL.

20 Produto obtido: Nanopartícula

Resultados:

Potencial Zeta -45,95 mV

Diâmetro 227,4 nm

Taxa de associação 100 %

25

**Exemplo 16** – Obtenção da nanoestrutura 16 em presença de Tween 80 e Span80®

Composição

➤ Fase Orgânica

30 1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

150 mg de Span80®

100 mg de polímero hidrofóbico (PECL)

50 mg de óleo (ODD)

24 g de solvente orgânico (acetona)

➤ Fase Aquosa

5 48 g de água MiliQ

125 mg de Tween 80

Procedimento

10 As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo o monooleato de sorbitano (Span80®) e o polissorbato 80 (Tween 80).

15 É elaborada uma fase orgânica composta de fosfatidilcolina, ODD, PECL e extrato vegetal dissolvidos em acetona. A fase orgânica é vertida sobre a fase aquosa, composta de água e polissorbato 80, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se  
15 procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 10mL.

Produtos obtidos: nanocápsulas/nanopartículas/nanodispersos

Resultados:

20 Potencial Zeta -46,92 mV

Diâmetro 286,8 nm

Taxa de associação 100 %

Nos próximos exemplos será avaliado apenas o tensoativo Tween 80.

25 **Exemplo 17 – Obtenção da nanoestrutura 17 em presença de Tween 80**

Composição

➤ Fase Orgânica

1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

24 g de solvente orgânico (etanol)

30 ➤ Fase Aquosa

48 g de água MiliQ



125 mg de Tween80

Procedimento

5 As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo o polissorbato 80 (Tween 80).

É elaborada uma fase orgânica composta de extrato vegetal, dissolvidos em etanol. A fase orgânica é vertida sobre a fase aquosa, composta de água e polissorbato 80, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando  
10 do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 8 mL.

Produtos obtidos: nanodispersos/micelas

Resultados:

15 Potencial Zeta -40,39 mV  
Diâmetro 142,8 nm  
Taxa de associação 63,5 %

**Exemplo 18 – Obtenção da nanoestrutura 18 em presença de Tween 80**

Composição

- 20 ➤ Fase Orgânica  
1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado  
50 mg de óleo (ODD)  
24 g de solvente orgânico (etanol)
- 25 ➤ Fase Aquosa  
48 g de água MiliQ  
125 mg de Tween 80

Procedimento

30 As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo o polissorbato 80 (Tween 80).

É elaborada uma fase orgânica composta de extrato vegetal e ODD, dissolvidos em etanol. A fase orgânica é vertida sobre a fase aquosa, composta de água e polissorbato 80, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 8 mL.

Produtos obtidos: nanodispersos/nanoemulsão

Resultados:

Potencial Zeta -41,88 mV  
Diâmetro 406,6 nm  
Taxa de associação 87,4 %

**Exemplo 19** – Obtenção da nanoestrutura 19 em presença de Tween 80

- Fase Orgânica
  - 1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado
  - 100 mg de polímero hidrofóbico (PECL)
  - 24 g de solvente orgânico (acetona)
- Fase Aquosa
  - 48 g de água MiliQ
  - 125 mg de Tween80

Procedimento

As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo o polissorbato 80 (Tween 80).

É elaborada uma fase orgânica composta de PECL e extrato vegetal dissolvidos em acetona. A fase orgânica é vertida sobre a fase aquosa, composta de água e polissorbato 80, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 10mL.

Produto obtido: nanopartículas

Resultados:

Potencial Zeta -48,51 mV

Diâmetro 279,9 nm

Taxa de associação 100 %

5

**Exemplo 20** – Obtenção da nanoestrutura 20 em presença de Tween 80➤ Fase Orgânica

1 mL de extrato vegetal hidromiscível padronizado

100 mg de polímero hidrofóbico (PECL)

10

50 mg de óleo (ODD)

24 g de solvente orgânico (acetona)

➤ Fase Aquosa

48 g de água MiliQ

125 mg de Tween80

15

Procedimento

As nanoestruturas foram preparadas pela técnica de nanoestruturação seguida por deslocamento do solvente, utilizando como agente tensoativo o polissorbato 80 (Tween 80).

20

É elaborada uma fase orgânica composta de ODD, PECL e extrato vegetal dissolvidos em acetona. A fase orgânica é vertida sobre a fase aquosa, composta de água e polissorbato 80, sob agitação magnética moderada havendo formação instantânea de nanoestruturas. A agitação se procede por 10 minutos e quando do seu final ocorre a etapa de eliminação do solvente orgânico e redução do volume em evaporador rotatório, até o volume de 10 mL.

25

Produto obtido: nanocápsulasResultados:

Potencial Zeta -42,4 mV

Diâmetro 283,1 nm

Taxa de associação 100 %

30

**Morfologia das estruturas**

Para a avaliação morfológica da fase dispersa, foi utilizada microscopia eletrônica de transmissão. As dispersões de nanoemulsões foram diluídas em água na proporção 1:10 (dispersão:água), sendo logo após distribuídas em 5 suporte metálico (200 mesh) de cobre com revestimento de Formvar® e carbono. Para fins de contraste foi utilizado o acetato de uranila 2 % durante 1 minuto.

A Figura 1 demonstra estruturas esféricas com borda definida contrastada pelo acetato de uranila, sem influência marcante da presença da 10 quercetina ou do extrato de *Achyrocline satureioides* sobre a morfologia das gotículas. Observam-se estruturas de diâmetro de 200-300 nm. Contudo, foram observadas, com certa frequência, apenas para a NEE, estruturas apresentando um envoltório na interface das gotículas (detalhe em 2F).

### Reivindicações

#### NANOESTRUTURA COMPREENDENDO EXTRATOS VEGETAIS, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE NANOESTRUTURA COMPREENDENDO EXTRATOS VEGETAIS E COMPOSIÇÕES COMPREENDENDO AS MESMAS

5

1. Nanoestrutura compreendendo pelo menos um extrato vegetal bioativo caracterizado pelo fato da nanoestrutura possuir um diâmetro de partícula inferior a 1 micrômetro.

10 2. Nanoestrutura, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo extrato vegetal ser escolhido de plantas pertencentes a diversos gêneros e mistura dos mesmos.

3. Nanoestrutura, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo gênero ser *Achyrocline*.

15 4. Nanoestrutura, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pela planta ser *Achyrocline satureioides*.

5. Nanoestrutura, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo diâmetro de partícula médio estar compreendido na faixa que vai de 100 a 500 nm.

20 6. Nanoestrutura, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela nanoestrutura se apresentar na forma de uma nanoemulsão, uma nanopartícula, um nanoagregado e/ou lipossomas.

7. Processo de produção de nanoestruturas compreendendo extratos vegetais caracterizado por compreender as etapas de:

a) dissolver em um solvente orgânico:

25 i) de 0,01% p/p a 10% p/p de pelo menos um extrato vegetal bioativo;

ii) até 15% de pelo menos um composto selecionado do grupo que compreende:

- tensoativos;

30 - substância oleosa;

- polímeros; e
- mistura dos mesmos.

b) adicionar a solução (a) em água, sob agitação; e

c) evaporar os solventes.

- 5           8. Processo de produção, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo extrato vegetal ser escolhido de plantas pertencentes a diversos gêneros e mistura dos mesmos.
9. Processo de produção, de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo gênero ser *Achyrocline*.
- 10          10. Processo de produção, de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pela planta ser *Achyrocline satureioides*.
11. Processo de produção, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo solvente orgânico ser escolhido do grupo que compreende etanol, acetona e mistura dos mesmos.
- 15          12. Processo de produção, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pela substância oleosa ser escolhida do grupo que compreende decil oleato, isohexadecano, ésteres do ácido esteárico e/ou oleico, etanolamida de ácido graxo de côco, óleos, como óleo de milho, amendoim, sésamo, oliva, jojoba, soja, álcool graxo, parafina, triglicerídeos de cadeia
- 20          média, palmitatos, miristatos, octildodecanol e mistura dos mesmos..
13. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo tensoativo ser preferencialmente escolhido do grupo que compreende lecitinas e fosfolípídeos e mistura dos mesmos.
14. Processo de produção, de acordo com a reivindicação 7,
- 25          caracterizado pelo polímero ser poli-epsilon-caprolactona.
15. Processo de produção, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pela água utilizada em b) pode conter até 5% p/p de um tensoativo.
16. Processo de produção, de acordo com a reivindicação 7,
- 30          caracterizado pela etapa de evaporação do solvente ser realizada até que o volume final seja em torno de 10% a 15% do volume inicial.

18. Composição compreendendo nanoestruturas caracterizada por compreender:

- 5 a) de 0,1% a 99% de uma nanoestrutura compreendendo um extrato vegetal possuindo um diâmetro de partícula médio menor que aproximadamente 1000 nm;
- b) um veículo adequado.

19. Composição, de acordo com a reivindicação 18, caracterizada por ser uma composição cosmética, farmacêutica e/ou alimentícia.

10 20. Composição, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo extrato vegetal ser escolhido de plantas pertencentes a diversos gêneros e mistura dos mesmos.

21. Composição, de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo gênero ser *Achyrocline*.

15 22. Composição, de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pela planta ser *Achyrocline satureioides*.

23. Composição, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo diâmetro de partícula médio estar compreendido na faixa que vai de 1000 nm.

20 24. Composição, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pela nanoestrutura se apresentar na forma de uma nanoemulsão, uma nanopartícula, um nanoagregado e/ou lipossomas.

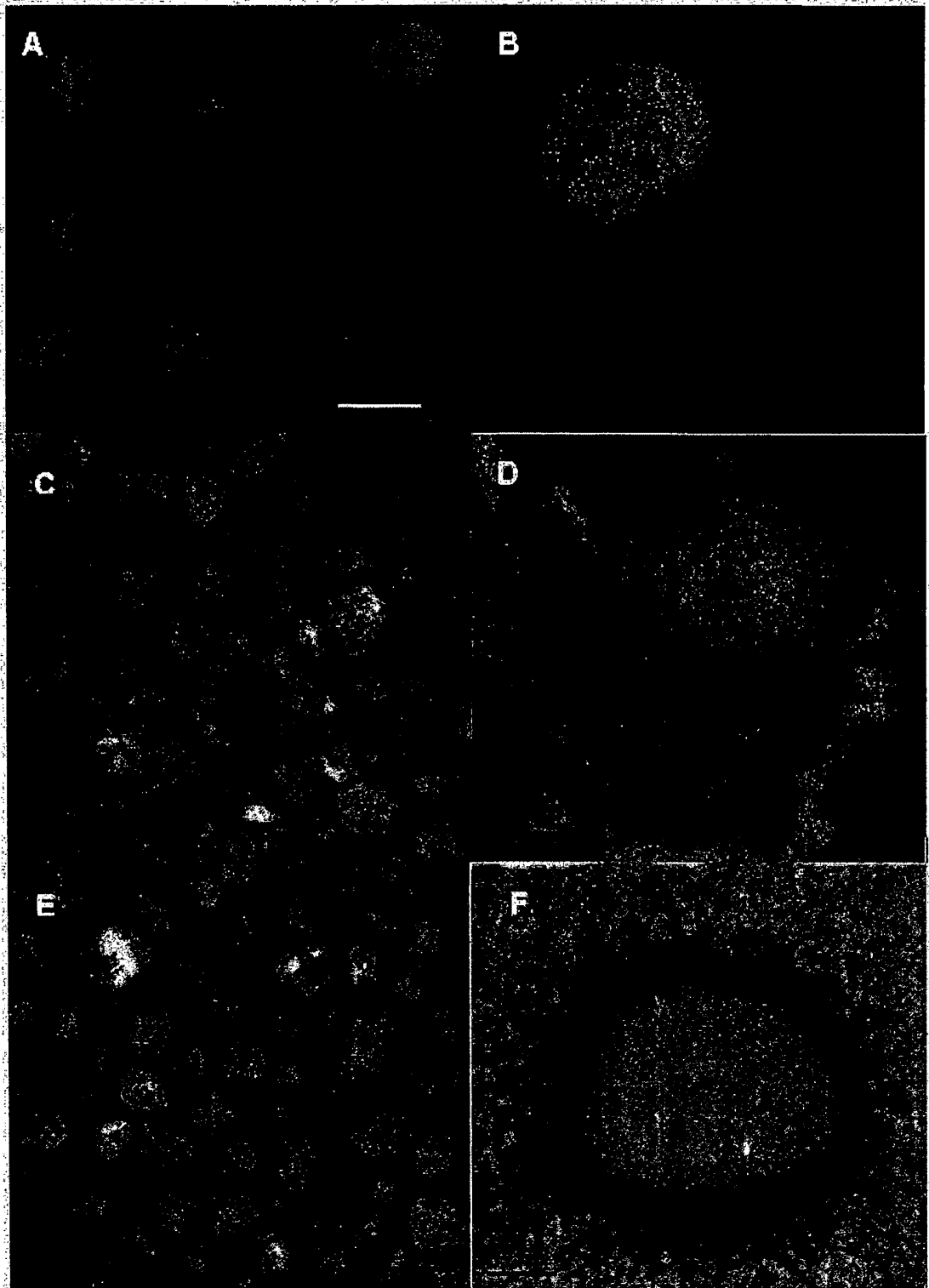


FIGURA 1



**Resumo****NANOESTRUTURA COMPREENDENDO EXTRATOS VEGETAIS, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE NANOESTRUTURA COMPREENDENDO EXTRATOS VEGETAIS E COMPOSIÇÕES COMPREENDENDO AS MESMAS**

- 5 A presente invenção consiste em um processo de obtenção de nanoestruturas e composições farmacêuticas, cosméticas e/ou alimentícias compreendendo tais nanoestruturas contendo extratos vegetais, sendo que a formação das nanoestruturas ocorre em uma única etapa.